

識別番号 P 7 2007年度完了学内共同研究
研究課題 理工学部改変に伴う生物科学系実験新規開講のための調査ならびに予備実験
研究代表者 牧野 修 (生命科学研究所、理工学部物質生命理工学科)
共同研究者 千葉篤彦、小林健一郎、林 謙介、安増茂樹、井内一郎 (以上生命科学研究所、理工学部物質生命理工学科) 笹川展幸、熊倉鴻之助 (以上生命科学研究所、理工学部情報理工学科) 神澤信行、田宮 徹、土屋隆英 (以上化学科、理工学部物質生命理工学科) ※所属の前者は2007年度の所属、後者は現所属
SUMMARY From fiscal year 2008, new curriculum starts due to the reform of the faculty of science and engineering. In this program, we have aimed to reconfirm and improve the experimental courses which will open from 2008. Through various preliminary experiments, each theme was upgraded in its safety measure and efficient instruction.

研究の目的

2008年度に予定されている理工学部の改変に伴って、来年度より生物科学系の実験が開始される。これまで理工学部で行われてきた物理や化学の実験と異なり、生物科学系については実験に必要な備品や消耗品の種類や量、さらに実際に多数の学生を対象とした場合の予想困難な事態等、さまざまな点で未知の困難が予想される。そこで、できる限りの予備的な実験を行うことで、改変後の学生実験に備え、強固な指導体制を確立することを目的とする。さらに、実際に予備的な実験を行い、状況をシミュレートすることによって、机上の推測のみでは予期が困難なさまざまな危険を見出すことができる可能性が高い。また、限られた時間および費用をできるだけ有効に利用し、いろいろな点で無駄のない、教育効果の高い学生実験を提供できるようにすることも大きな目的とする。

研究経過

理工学部改変後に開始される一連の生物科学系の学生実験は、一年生秋学期に学部生全員である360名対象(情報演習と共同)の「基礎生物・情報実験・演習」、二年生秋学期に40名対象の「生物科学実験Ⅰ」、三年生春学期にそれぞれ40名を対象の「生物科学実験Ⅱ」および「生物科学実験Ⅲ」である。本共同実験への申請に先立って担当教員間で数回の討議を重ね、申請が認められた場合の方針を検討した。

その結果、1. 実施時期が最も迫っている「基礎生物・情報実験・演習」について予備実験を行い問題点を探ること、2. 同じく「基礎生物・情報実験・演習」について、実際に学生を指導するに当たって活用できるマニュアルを作成することの二点に主力を傾注することとした。3. また、より専門的な内容を予定している「生物科学実験Ⅰ、Ⅱ、およびⅢ」についても学生実験を行うために必要な器材等の洗い出しや、予定時間内での実行可能性、さらに必ずしも専門知識のない学生に対する危険性の有無などについて検討を加えることとした。

その後申請が採択されたが、参加教員が多いため理工学部教授会の終了後に必要に応じて情報交換を行うこととし、実際の実験は専門分野の近い教員間で密に連絡を取りながら行うことを確認した。

実際の実験や検討の結果は研究成果の項に記載する。なお、本学内共同研究に参加した 11名の教員は上記四種類の実験の担当者である（全員がすべてを担当するわけではない）。また、「基礎生物・情報実験・演習」の半分の時間は情報関係の演習に当てられる（学生は半分に分かれるが、全員が生物実験を行う）。

研究成果 (I)「基礎生物・情報実験演習」関連

(1) 単細胞生物の観察 予備実験の記録 (担当 笹川展幸)

基礎生物学実験の1テーマである“単細胞生物の観察”で用いる予定のゾウリムシおよび、関連試薬類を購入し、実験内容の検討、実験マニュアルの試作、十分量のゾウリムシを確保するための培養法を検討した。実験内容の検討、実験マニュアルの試作に関しては、いくつか細かな部分は今後の検討を必要とするが、ほぼ完成した。十分量のゾウリムシを確保するための培養法は、季節や購入するゾウリムシの量や種の均一性など、多少問題はあがるが、比較的容易で効果的な培養方法が出来上がった。

(2) 無脊椎動物の解剖 予備実験の記録 (担当 林 謙介)

(1) 購入したザリガニの保管方法について、業者からまとめて購入したザリガニが、どのような条件で保管した場合にいつまで解剖実習に使用可能であるかを調査した。

(2) 購入を予定している器具で、解剖が安全に確実にできるかどうかを検討した。

(3) 予定している実験メニューが、実験時間内に実行可能であるかを検討した。

(3)「カタラーゼの酵素活性」に関する予備実験 (担当 神澤信彦)

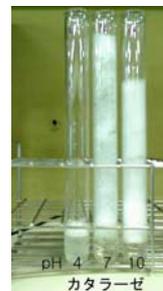
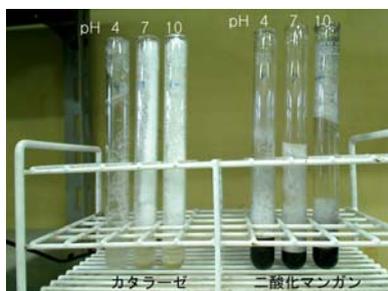
概要：2008年度より基礎生物の実験の一環としてカタラーゼの触媒作用を利用した酵素化学実験を実施する計画である。実際の実施に際して実施時間の算定と安全性の確認の必要があり、学内共同研究により購入した機器を使用し、予備実験を実施した。

結果：

予備実験を実施した際に以下の様な問題点があり、それぞれ対応策を検討した。

- ・ 実施人数 当初の計画では、実施者全体で肝臓より酵素を抽出する計画であったが、実際の作業は単調であり、教育効果をあげるために2人程度での実施が有効であると考え、マニュアルを改訂した。

酵素抽出法および反応緩衝液の検討を行った。同一試薬で幅広い緩衝帯をもつホウ酸/クエン酸緩衝液を選択した。実際の実験ではこの緩衝液を使うことで目的の活性変化が観察できることが確認できた。



界面活性剤、酵素量、触媒量、pH等を検討した結果発泡状態が改善された図の様に界面活性剤を調合したことにより発砲が長時間維持することができた。また酵素

量・二酸化マンガン量を調節することで観察に適切な反応条件を決定することが出来た。

安全性の確認

計画どおり、線香の火を試験管に近づけることで発生した酸素を確認することで安全に実験が実施できることが確認できた。

(4) 核酸の抽出実験 (担当 牧野 修)

ごく普通にスーパー等で入手できるブロッコリーを用いて十分な DNA を取得することができた。乳鉢でブロッコリーを破砕するよりも、やや大きめ(直径 15cm ほど)のすり鉢を用いるほうが簡便である。他の実験で乳鉢を使う予定がなさそうなので、学生実験においてもすり鉢を使用する予定とした。

今回のブロッコリーのつぼみを用いた実験は液体窒素等を用いる方法に比べてはるかに安全、安価、かつ効率的である。ほぼ同様にして、たとえば口腔内の細胞から DNA を抽出することができる。自分の DNA を見ることが出来る点で学生の興味を引く可能性は高いが、口の中を傷つける恐れがある、不潔感が強い、細胞が少ないとうまく DNA が取れない、などの理由により、採用を見送った。なお、下記の URL を参考とした。

http://gakuen.gifu-net.ed.jp/~contents/kou_dna/dna/tyuusyutu/bro1.html

研究成果 (II) 「生物科学実験 I」 関連 (責任者 牧野 修)

「生物学実験 I」では二年次秋学期に開講され DNA の取り扱いを中心としたいいわゆる分子生物学の基本を習得する。本学内共同研究においては、DNA を取り扱う上でもっとも基本となる DNA のサイズによる分画や、可視化、データのデジタル化、処理法等について備品を含む機器類を購入し、予備実験を行った。

基礎生物実験で行う遺伝子抽出実験では多量の DNA (純度はかなり低い) を肉眼で観察することになるが、生物学実験 I ではごく少量の DNA の特定の領域のみを増幅する、DNA を特定の箇所で切断し、さらに他の DNA 分子と結合させる、等肉眼で観察することが不可能な実験を行う。このような微量の DNA を検出するもっとも簡便で普遍的な方法では特殊な色素 (エチジウムブロマイド、EtBr) で染色し紫外線を照射して発生する蛍光を観察、撮影する。しかし若干の危険を伴い、また有毒物質を含む廃棄物が生じる。そこでまず、使用する色素を変更することとした。EtBr と違いサイバーグリーン (SYBR) には特段の発がん性は認められていない。また青色光 ($\lambda = 488\text{nm}$) を吸収し、緑色光 ($\lambda = 522\text{nm}$) を発する。そこで、SYBR、励起用の照射装置並びに DNA を分離する電気泳動装置等を購入して検討したところ、十分な蛍光が得られた。また、得られた蛍光像を簡便に保存するためにコンパクトデジタルカメラおよびデータの PC への取り込みを試みた。比較的安価であることと、学生に結果を持ち帰らせることが容易なためである。携帯できる暗箱とカメラ、上記の照射装置を用いて電気泳動後の DNA の撮影を行ったところ、極めて簡便に撮影可能であった。ただ、円形のフレアのようなものが映りこむため、メーカーの技術者を交えて 4 回にわたって条件検討を行った。その結果、完全ではないものの状況の改善が見られ、学生実験での使用には問題がないものと判断した。

以上により、危険な薬品を用いることなく、また、簡便に DNA の観察、撮影などを行う環境を整えることができた。

研究成果 (III)「生物科学実験 II」関連 (責任者 神澤信行)

生物科学実験 II は三年次に開講される。

本学内共同研究では「生物科学実験 II」に関する予備実験、調査等は実施しなかった。これは、現在化学科で実施されている生化学関係の実験と重複する内容が多いため、予備実験の必要性が低いと判断したためである。

研究成果 (IV)「生物科学実験 III」関連 (責任者 林 謙介)

生物科学実験 III は三年次に開講され、多細胞生物の体のしくみについて深く理解することを目的とする。高等生物では様々な分化した細胞がそれぞれの機能を果たしながら連携し、システムとして働いている。個体を各パーツ (器官) に分解し、その生理現象を観察し、様々な刺激を加えた時の反応を解析することによってシステムのメカニズムを理解する。また、器官を構成する細胞の種類と構造を観察する。動物の解剖、組織観察、細胞培養、筋肉や神経系、消化器系の生理学などの実験を行う。

(1) 電気刺激装置の性能テスト (担当 千葉篤彦)

ウシガエルの坐骨神経標本を用いた活動電位実験、および坐骨神経・腓腸筋標本を用いた筋収縮実験を行う予定である。これらの実験では様々な強度、頻度、刺激持続時間で神経束を刺激する必要があるため、最低で各実験台に一台の割合で精度の高い電気刺激装置を必要とする。今回、経済面に優れたダイヤモンドシステム社製簡易型電気刺激装置 DPS-007 を購入し、実際の生体標本を用いて予備実験を行い、この機種が実習用として使用可能かどうかを確認した。

(2) ひずみ計の性能テスト (担当 千葉篤彦)

筋肉の発生する張力を電気信号に変えてオシロスコープに入力し、張力発生の時間経過や波形の特性等をその場で学生に理解させる必要がある。張力を電気信号に変換するためには一般的には生理学用のアイソメトリックトランスデューサーとアンプが用いられているが、学生実習用として数台ずつそろえるとかなり高額になる。そこで今回我々は、それに代わるものとして金属用のひずみ検出器を用いることができるかどうかを検討した。「ひずみ計キット WK-FLA」を1セット購入し、視覚的に観察の可否を検討した。

その結果、この金属ひずみ検出器を生理学用のアイソメトリックトランスデューサーとアンプの代用品として実習に用いるには、発生するノイズの面で大きな問題があることが分かった。

(3) 平滑筋収縮に関する生物科学実験の準備 (担当 笹川展幸)

平滑筋収縮に関する生物科学実験 III の準備として、選定すべきマグヌス管、トランスデューサー、試料保持ホルダー、送気管などのバランスを検討・購入し、機器類のセットアップを試みた結果、本試作セットで、目的とする実験精度が得られることがほぼ確認できた。また、平滑筋の張力測定用トランスデューサーの出力信号がオシロスコープに合致するか検討し、トランスデューサーからの出力信号は本オシロスコープで検知しうる物であることが確認できた。

研究成果 (V)「基礎生物・情報実験・演習」マニュアル (生物実験分)

基礎生物実験に際して学生に配布し、また、担当教員が参照するためのマニュアルを作成した。B5版で表紙を含めて64ページの小冊子である。

考察

以上、2008年度秋学期開講予定の実験を中心に予備実験を行い、必要な機器、用品、薬品、その他を確認することができた。また、実際に実験を行うことで時間配分やグループの人数等を考慮するうえで有益な知見を得ることができた。

実験に際しては白衣や保護メガネの着用によって安全性を高めているが、さらに安全度を高めるための知見も得ることができた。

2008年度秋学期開講予定の基礎生物実験は一日で終了する7つのテーマを学部生全員に課するものである。教員の人数には限りがあるため、各人が複数のテーマの指導を行う必要がある。また、TAに関しても当面は物質生命理工学科の卒業生ではないため当該実験の経験はない。そこで今回、学内共同研究の一部として実験マニュアルの作成を試みた。各テーマの担当責任者を中心として、予備実験の結果も踏まえてマニュアルを作成した。印刷製本も終了しているので、新学期に配布する予定である。

2009年度以後に開講予定の実験に関しても（すべてではないが）予備的な実験、調査を行うことができた。とくに、普段の研究活動ではあまり利用しない機器を用いた実験も予定されていることから、このような予備実験・調査は極めて有意義であった。

課題としては、比較的短期間の研究期間であったためもあり、更なる検討が必要なことが明らかになった実験もある。さらに、不十分な点が残っている可能性、また、新入生の数が予想よりもかなり増えたため、予期しない状況が生じる可能性などが考えられる。先行して開始された基礎物理や基礎化学の実験担当者との情報を共有し、慎重に開始することが必要と思われる。